

Boletim de Pesquisa 65 e Desenvolvimento

ISSN 1679-6543
Novembro, 2012

Aprimoramento da Germinação e Avaliação da Viabilidade de *Asperisporium caricae*, Extraídos de Folhas de Mamoeiro como Fonte de Inóculo



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 65

Aprimoramento da Germinação e Avaliação da Viabilidade de *Asperisporium caricae*, Extraídos de Folhas de Mamoeiro como Fonte de Inóculo

*Francisco Aldiel Lima
Marlon Vagner Valentim Martins
Joilson Silva Lima
Francisco Marto Pinto Viana
José Glauber Moreira Melo*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
Home page: www.cnpat.embrapa.br
E-mail: vendas@cnpat.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: *Marlon Vagner Valentim Martins*
Secretário-Executivo: *Marcos Antonio Nakayama*
Membros: *José de Arimatéia Duarte de Freitas, Celli Rodrigues*
Muniz, Renato Manzini Bonfim, Rita de Cassia Costa
Cid, Rubens Sonsol Gondim, Fábio Rodrigues de Miranda

Revisão de texto: *Marcos Antonio Nakayama*
Normalização bibliográfica: *Edineide Maria Machado Maia*
Editoração eletrônica: *Marcos Antonio Nakayama*
Foto da capa: *Marlon Vagner Valentim Martins*

1ª edição (2012): versão eletrônica

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agroindústria Tropical

Aprimoramento da germinação e avaliação da viabilidade de *Asperisporium caricae*, extraídos de folhas de mamoeiro como fonte de inóculo / Francisco Aldiel Lima... [et al.] – Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

22 p.; 21 cm. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543, 65).

1. *Carica papaya*. 2. Pinta-preta. 3. Germinação. I. Lima, Francisco Aldiel. II. Martins, Marlon Vagner Valentim. III. Lima, Joilson Silva. IV. Viana, Francisco Marto Pinto. V. Melo, José Glauber Moreira. VI. Série.

CDD 634.651

© Embrapa 2012

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	12
Conclusões.....	18
Agradecimentos.....	18
Referências	19

Aprimoramento da Germinação e Avaliação da Viabilidade de *Asperisporium caricae*, Extraídos de Folhas de Mamoeiro como Fonte de Inóculo

Francisco Aldiel Lima¹

Marlon Vagner Valentim Martins²

Joilson Silva Lima³

Francisco Marto Pinto Viana⁴

José Glauber Moreira Melo⁵

Resumo

A pinta-preta do mamoeiro é muito importante por causar danos nos frutos e comprometer toda a produção da planta. Objetivou-se aprimorar a germinação in vitro de conídios de *Asperisporium caricae*, bem como avaliar a germinação dos conídios obtidos de folhas de mamoeiro como fonte de inóculo. Para a germinação, foram testados três diferentes substratos (V8, ágar-ágar e papel celofane), associados a dois veículos (água + tween 20 a 0,05% e óleo mineral). O delineamento utilizado foi o DIC em esquema fatorial 3x2, com quatro repetições. Num outro ensaio, quantificou-se o número de conídios e a germinação em meio V8 do inóculo retirados de folhas verdes, amarelas e secas. O delineamento utilizado foi o DIC com quatro repetições. Para ambos os ensaios, as médias foram comparadas

¹ Engenheiro-agrônomo, mestrando em Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, aldiel_metal@hotmail.com

² Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Produção Vegetal (Fitossanidade), pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, marlon.valentim@embrapa.br

³ Engenheiro-agrônomo, doutorando em Fitotecnia da UFC, Fortaleza, CE, joilsonagro@gmail.com

⁴ Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, marto.viana@embrapa.br

⁵ Engenheiro-agrônomo, doutorando em Fitotecnia da UFC, Fortaleza, CE, joseglauber@yahoo.com.br

pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Num terceiro ensaio, quantificou-se o número médio de conídios produzidos em diferentes épocas do ano. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento, e as médias foram comparadas pelo teste t ($P \leq 0,05$). O meio V8 proporcionou uma maior germinação dos conídios de *A. caricae*, associado ao óleo mineral. A germinação dos conídios nas folhas verdes mostrou-se inferior aos demais tratamentos, porém com o número superior de conídios. As folhas coletadas em novembro de 2010 apresentaram maior quantidade de conídios em relação às coletadas em março de 2011. As folhas verdes, amarelas e secas do mamoeiro são fontes de inóculo.

Termos para indexação: *Carica papaya*, pinta-preta, germinação.

Upgrading of Germination and Viability Assessment of *Asperisporium caricae* Extracted from Leaves as a Source of Inoculum

Abstract

*The papaya black spot is a plant disease that cause damage to fruits and affect all production. The aim of this study was to improve the in vitro germination of conidia of Asperisporium caricae as well as assess the germination of conidia obtained from papaya leaves as a source of inoculum. For germination three different substrates (V8, agar and cellophane) were tested associated with two vehicles (water + tween 20 (0.05%) and mineral oil). The design was DIC in a 3x2 factorial arrangement with four replications. In another test, it was quantified the number of conidia and germination in V8 of the inoculum taken from green leaves, yellow and dry. In both experiments, the design was DIC with four replications and the means compared by Tukey test ($P \leq 0.05$). In a third test, it was quantitated average number of conidia produced in different seasons. There were four replications per treatment, and means were compared by t test ($P \leq 0.05$). The V8 provides a larger spore germination of *A. caricae* associated with mineral oil. The germination of spores in green leaves was lower than other treatments, but with higher number of spores. The leaves collected in November 2010 showed a higher concentration of conidia in relation to collected in March 2011. Green, yellow and dry papaya leaves are sources of disease.*

Index terms: Carica papaya, papaya black spot, germination.

Introdução

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), possivelmente originário da América Central (sul do México e Costa Rica), é uma das plantas tropicais de maior importância na produção nacional e mundial de fruteiras. Seu fruto é consumido principalmente in natura, e usado para a extração de enzima proteolítica (papaína) empregada na indústria alimentícia e de medicamentos (NAKASONE, 1994; SIMÃO, 1998). Os principais estados produtores do Brasil são a Bahia e o Espírito Santo, destacando-se o segundo pela sua produtividade. De acordo com o IBGE (2011), no ano de 2009, o Ceará produziu cerca de 105 mil toneladas em uma área de 2.360 ha.

Entre os principais fatores que interferem na produção do mamão, estão as doenças e as pragas. Segundo Martins e Costa (2003), as doenças do mamoeiro destacam-se pelas severas perdas na produção, prejudicando a comercialização e a exportação de frutos in natura. A varíola ou pinta-preta, causada pelo fungo *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl., constitui-se numa das doenças fúngicas mais importantes da cultura. Essa doença prejudica as folhas, diminuindo a capacidade fotossintética da planta e, no fruto, causa lesões estromáticas, depreciando o seu valor comercial. Os sintomas mais evidentes ocorrem na página inferior das folhas pela formação de pústulas negras que refletem como um amarelecimento na região correspondente da página superior das folhas, seguido de lesões necróticas arredondadas de coloração cinza clara sobre a folha. Nos frutos, inicialmente ocorrem manchas aquosas que, com a evolução da doença, tornam-se escuras e, por vezes, coalescem tomando grande parte da superfície. As lesões são epidérmicas e não chegam a afetar a polpa do fruto, mas, em estádios mais avançados, tornam-se deprimidas e podem afetar a parte interna ou abrir portas para a colonização do fruto por outros fungos.

A doença é favorecida por condições de elevada umidade, principalmente em épocas chuvosas. A sobrevivência dos conídios ocorre em folhas e frutos doentes que ficam presos na planta ou

naturalmente caídos ao solo, sendo a sua disseminação a curtas distâncias realizadas por respingos de chuva ou água de irrigação e, a longas distâncias, pelo vento (REZENDE; MARTINS, 2005).

Por se tratar de um parasita obrigatório, a sobrevivência e a viabilidade de *A. caricae* em folhas ou restos de cultura devem ser consideradas como atributos epidemiológicos. Os conídios obtidos de folhas e frutos presos à planta ou de restos culturais representam o inóculo inicial para desencadear e aumentar a epidemia da doença. No entanto, a viabilidade dos conídios de *A. caricae* obtidos de folhas em diferentes estádios fenológicos representando as fontes de inóculo ainda não foi estudada.

O cultivo de *A. caricae* em meio de cultura é muito difícil (CHAMBERS; RIJKENBERG, 1987; SILVA, 2010), o que prejudica os estudos in vitro desse fungo. Apesar disso, a germinação de conídios de parasitas obrigatórios em meios de cultura tem sido realizada com sucesso e se mostrado satisfatória na avaliação da viabilidade dessas estruturas na ausência do hospedeiro (ANGELOTTI, et al., 2011; FURTADO et al., 2008). Estudos in vitro da germinação de conídios em meio de cultura são importantes, uma vez que tornam possível verificar alguns aspectos epidemiológicos da doença, tais como fontes de inóculo, sobrevivência dos conídios em restos culturais, evolução do progresso da doença, eficiência de fungicidas pulverizados em campo, bem como o efeito de novas moléculas in vitro. Por outro lado, a germinação de conídios em meio de cultura pode se tornar uma ferramenta útil na verificação da viabilidade do fungo armazenado.

Em ensaios realizados por Rossi et al. (2008) utilizando quatro substratos (papel celofane, ágar, meio de cocção de folhas de mamão e lâmina de vidro) na germinação dos conídios de *A. caricae*, verificou-se que o papel celofane obteve germinação superior em relação aos outros substratos. No entanto, o crescimento do tubo germinativo nesse substrato foi muito pequeno, o que dificultou ou limitou a metodologia desenvolvida.

Este trabalho teve como objetivo o estabelecimento de método de avaliação da viabilidade de conídios de *A. caricae*, visando monitorar o potencial de inóculo desse patógeno em diferentes estádios de desenvolvimento.

Material e Métodos

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical no período de abril de 2010 a abril de 2011. As amostras de folhas do mamoeiro do grupo Formosa, híbrido Calimosa, infectadas pelo patógeno foram obtidas no campo experimental do Curu, da Embrapa Agroindústria Tropical, localizado no Município de Paraipaba, CE. As amostras de folhas foram acondicionadas em sacos plásticos umedecidos, guardados em caixa de isopor, e levadas ao laboratório para a realização dos ensaios.

Efeito de diferentes substratos na germinação de conídios *A. caricae*

Foram utilizadas folhas sintomáticas coletadas em campo, preservadas em câmara úmida e armazenadas em geladeira por pelo menos 48 horas para a extração dos conídios do fungo. A obtenção dos conídios foi feita com o auxílio de um furador de rolhas de 3 mm de diâmetro, extraindo 60 fragmentos de tecido de foliar com pústula que foram transferidos para dois microtubos de 2 mL, tipo Eppendorf®, um contendo 1 mL de óleo mineral e outro com 1 mL de água estéril + espalhante tween 20 (0,05%). Em seguida, os microtubos foram submetidos à agitação em agitador Vortex®, para a liberação dos conídios das pústulas, obtendo-se uma suspensão de conídios concentrada, a partir da qual preparou-se uma nova suspensão de conídios na concentração de $1,3 \times 10^6$ conídios.mL⁻¹.

Os testes para a verificação da viabilidade dos conídios foram realizados em meio sólido V8 modificado (Suco V8® + CaCO₃ + cloranfenicol 0,01%), ágar-ágar + cloranfenicol 0,01%, e papel celofane, todos associados a dois veículos: óleo mineral e água destilada estéril + tween 20 (0,05%). Foram retirados 100 µL da

suspensão de conídios obtidas nos microtubos e depositados em placas de Petri contendo meios-testes. As placas foram incubadas em câmaras de crescimento a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas e fotoperíodo de 12 horas.

A germinação dos conídios foi avaliada por meio de um microscópio óptico Nikon Eclipse E200®. Para cada placa, fizeram-se três leituras de diferentes regiões, contando-se o número médio de 150 conídios germinados e não germinados. Os conídios foram considerados germinados quando o comprimento do tubo germinativo foi maior ou igual a sua largura.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3X2 com 4 repetições. O primeiro fator foi constituído pelos substratos, e o segundo, pelos veículos, sendo cada repetição constituída de uma placa de Petri com o meio de cultivo. Esse ensaio foi realizado em duplicata. A análise de variância dos dados obtidos foi realizada pelo pacote estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010), e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Teste de viabilidade de conídios de *A. caricae* das folhas de diferentes estádios de desenvolvimento

Folhas em três diferentes estádios de desenvolvimento (folhas verdes, amarelas e secas) foram coletadas na área experimental em novembro e dezembro de 2010, conduzidas ao laboratório onde foram armazenadas em geladeira por não menos que 48 horas, conforme metodologia anterior. Após esse tempo, as pústulas foram extraídas das folhas, separadas e distribuídas proporcionalmente em três microtubos de 2 mL tipo Eppendorf®. Em cada microtubo, foi adicionado 1 mL de óleo mineral. Após uma ligeira agitação no agitador Vortex®, retiraram-se 100 μL da suspensão ajustada em $1,3 \times 10^6$ conídios. mL^{-1} , para posterior semeadura no meio de cultura V8 acrescido de antibiótico (cloranfenicol 0,01%).

O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (folhas verdes, amarelas e secas) e quatro repetições,

tendo como unidade experimental uma placa de Petri. O ensaio foi repetido duas vezes.

Foram feitas três leituras de diferentes regiões da placa de Petri, contando-se o número médio de 150 conídios germinados e não germinados. A germinação foi avaliada com um microscópio óptico Nikon Eclipse E200®. A análise estatística dos dados foi realizada por meio de análise de variância, utilizando o pacote estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010), e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Quantificação de conídios de *A. caricae* das folhas de mamoeiro de diferentes estádios de desenvolvimento e épocas do ano

Dois ensaios foram realizados em laboratório para a quantificação do número de conídios presentes nas pústulas das folhas de mamoeiro. No primeiro ensaio, utilizaram-se folhas infectadas do mamoeiro em três diferentes estádios de desenvolvimento (verde, amarela e seca), coletadas em novembro de 2010. No segundo ensaio, foram utilizadas apenas folhas verdes coletadas em duas diferentes épocas do ano, novembro de 2010 e março 2011. As pústulas foram retiradas das folhas doentes, colocadas em tubos tipo Eppendorf®, e acondicionadas em geladeira. A quantificação dos conídios foi realizada em abril de 2011.

Em uma balança de precisão, foram pesados 20 mg de pústulas para cada tratamento, que foram colocadas em microtubos e diluídas em 200 μ L de água destilada. Em seguida, a suspensão de conídios foi homogeneizada em um agitador tipo Vortex®. Foi retirada uma alíquota de 10 μ L e transferida para câmara de Neubauer® para a quantificação dos conídios com auxílio de microscópio ótico. Foram realizadas quatro repetições por tratamento.

Com os dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$, efetuou-se a análise de variância, utilizando o pacote estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2010). Para o primeiro ensaio, os tratamentos foram comparados pelo teste de médias Tukey ($P \leq 0,05$), enquanto, no segundo ensaio, utilizou-se o teste t ($P \leq 0,05$).

Resultados e discussão

Efeito de diferentes substratos na germinação de conídios *A. caricae*

Verificou-se que o meio V8 com a suspensão veiculada em óleo mineral foi o melhor tratamento, quando comparado com ágar-ágar e com papel celofane, obtendo uma germinação de aproximadamente 70% dos conídios, quando submetida às mesmas condições de incubação (Figura 1).

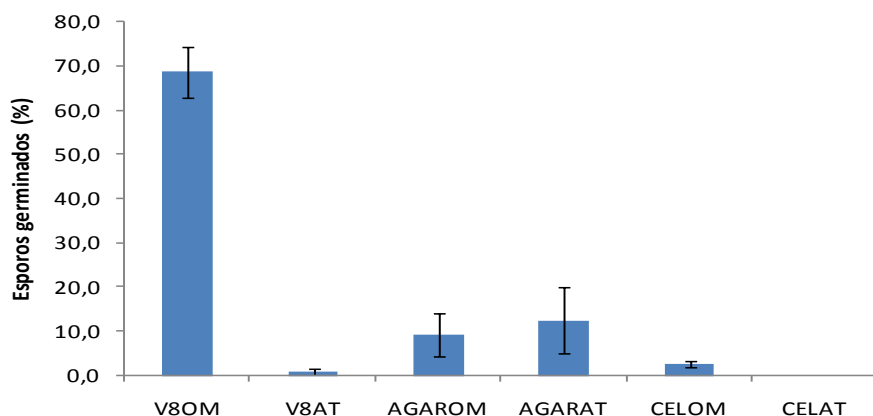


Figura 1. Porcetagem de esporos de *A. caricae* germinados em meio de cultura V8, ágar e papel celofane veiculado com óleo mineral (OM) e água + Tween 20 (AT). As barras indicam o desvio padrão.

Os resultados demonstraram que, quando o veículo foi água + tween 20, o meio ágar-ágar foi mais eficiente na germinação de conídios (Figura 1). Já quando o veículo foi óleo mineral, o meio V8 foi o mais eficiente na germinação dos conídios de *A. caricae*. Bossanelli et al. (2012) constataram que o meio ágar-ágar é pouco eficiente na germinação desse fungo, o que comprova as nossas constatações.

A emissão do tubo germinativo começou a ocorrer após 6 horas de incubação em meio V8 veiculadas em óleo mineral. Esses resultados foram diferentes dos obtidos por Carvalho et al. (2012), que verificaram a germinação 24 horas após a inoculação em folhas do mamoeiro. Mesmo em meio artificial, a germinação foi mais rápida do que em folha inoculada. Rossi et al. (2008) consideraram como conídios germinados um tubo germinativo de tamanho de 5 μm . Entretanto, os resultados deste ensaio foram semelhantes aos de Lima et al. (2010), que observaram a ocorrência de emissão de tubos germinativos nas extremidades dos conídios sem formação de apressórios, além de maior tamanho do tubo germinativo em relação à largura ou o comprimento do conídio (Figura 2).

A partir desses resultados, pode-se inferir que o fungo precisa de fatores específicos para germinar. Mesmo em meios com extrato de folhas de mamão, Rossi et al. (2008) não obtiveram respostas positivas para a germinação. No entanto, neste trabalho, especula-se que a alta umidade relativa (obtida em câmara úmida) e o frio (temperatura baixa – em geladeira $\pm 6^\circ\text{C}$) tiveram papel importante na indução da germinação e na quebra de dormência. O fungo parece entrar



Foto: Marlon Vagner Valentim Martins

Figura 2. Conídios germinados de *A. caricae* em meio V8 veiculados em óleo mineral.

em dormência na ausência do hospedeiro. Em ensaios preliminares, mesmo em meio V8, baixa porcentagem de germinação dos conídios foi constatada em folhas não submetidas a esses dois fatores. Porém, a forma e o tempo de acondicionamento das folhas doentes retiradas do campo necessitam de estudos mais aprofundados para avaliar o seu efeito, pois não há informações na interferência do frio na germinação, bem como o seu tempo de armazenamento em condições de frio.

Teste de viabilidade de conídios de *A. caricae* das folhas de diferentes estádios de desenvolvimento

Houve efeito dos tratamentos (estádios fenológicos das folhas) em função da germinação dos conídios de *A. caricae* (Tabela 1).

Tabela 1. Germinação média de conídios de *A. caricae*, obtidos de folhas em três diferentes estádios fenológicos de desenvolvimento do mamoeiro Calimosa, cultivado no campo experimental do Curu, em Paraipaba, CE.

Estádio fenológico	Conídios germinados (%)			Média
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	
Folha seca	88 ^{ab}	96 ^a	96 ^a	93
Folha amarela	89 ^a	91 ^a	94 ^a	91
Folha verde	86 ^b	81 ^b	89 ^b	85
CV ⁽¹⁾ (%)	3,0	3,7	3,4	-

⁽¹⁾ CV: Coeficiente de variação.
Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Apesar da alta porcentagem de germinação em todos os tratamentos, constatou-se que a germinação dos conídios extraídos das folhas verdes, nos ensaios 1, 2 e 3, diferiram significativamente ($P \leq 0,05$) das demais. Por outro lado, a germinação dos conídios retirados de

folhas amarelas e secas não diferiu estatisticamente entre si para todos os ensaios (Tabela 1).

O fato de a germinação dos conídios presentes nas folhas amarelas e secas ser maior que nas folhas verdes pode ser devido a sua maturação fisiológica, a uma necessidade de dispersão e, por conseguinte, colonização de novos materiais.

Por ser um parasita obrigatório e pela habilidade de se desenvolver em hospedeiro vivo, a maior viabilidade desses conídios em folhas amarelas e secas pode ser uma estratégia utilizada pelo fungo para uma ligeira infecção em folhas novas. Para o patossistema (mamão x *A. caricae*), as fontes de inóculo são importantes na epidemia da doença. Ciclos secundários da doença ocorrem quando existem fontes de inóculo, tecido sadio do hospedeiro e condições climáticas favoráveis (AGRIOS, 2005).

As folhas em todos os estádios de desenvolvimento são potenciais fontes de inóculo, mesmo havendo diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 1). A viabilidade dos conídios, ainda que nas folhas verdes, é um indicativo do potencial de inóculo para sucessivos ciclos epidêmicos no plantio.

Suzuki et al. (2007), em estudos de epidemiologia e controle de *A. caricae* em mamão no norte do Estado do Espírito Santo, verificaram que as folhas doentes do mamoeiro são importantes fontes de inóculo e que sua eliminação da área de cultivo contribui para a redução da doença no campo. Nesse caso, as folhas amarelas e secas, importantes fontes de inóculo, devem ser eliminadas como medida integrada de controle da doença no mamoeiro, sem prejuízo para o desenvolvimento das plantas.

Ainda não se tem conhecimento da forma de sobrevivência desse fungo em restos de cultura (folhas caídas no chão). Novos experimentos devem ser conduzidos para verificar essa hipótese e sua importância no desencadeamento das epidemias no campo.

Quantificação de conídios de *A. caricae* das folhas de mamoeiro de diferentes estádios de desenvolvimento e épocas do ano

A esporulação média de conídios, obtida de folhas em diferentes estádios de desenvolvimento, é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Média da esporulação de *A. caricae*, em folhas de diferentes estádios de desenvolvimento coletadas do mamoeiro Calimosa, cultivado no campo experimental do Curu, em Paraipaba, CE.

Tratamento	Número médio de conídios ⁽¹⁾
Folha verde	15,5 x10 ⁻⁵ a
Folha amarela	8,75 x10 ⁻⁵ b
Folha seca	5,5x10 ⁻⁵ b
CV (%) = 32,0	-

⁽¹⁾ Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$.

Médias originais seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P\leq0,05$).

O número médio de conídios presentes em folhas verdes diferiu significativamente das demais ($P\leq0,05$) (Tabela 2). Apesar de as folhas amarelas e secas apresentarem uma menor quantidade de conídios, os resultados nos ensaios anteriores mostraram uma germinação superior quando comparados com os conídios presentes em folhas verdes. Entretanto, mesmo com uma menor germinação de conídios extraídos de folhas verdes, a maior quantidade de conídios nessas folhas reflete a necessidade de tecidos vivos para a produção inicial do inóculo. A quantidade de conídios observados em folhas pode estar relacionada com a dispersão e a senescência da folha. Em folhas verdes, o número médio de conídios é maior provavelmente em função de sua característica de parasita obrigatório ou na baixa capacidade de disseminação ocorrida de pústulas jovens. Por outro lado, os conídios de folhas amarelas e secas estão talvez fisiologicamente maduros

para serem dispersos para órgãos fisiologicamente ativos (folhas e frutos verdes) e causar novas infecções. Em decorrência disso é que provavelmente se observaram menores quantidades médias de conídios em folhas amarelas e secas. Novos estudos devem ser realizados visando determinar em que fase de desenvolvimento foliar a dispersão de conídios é mais eficiente para novos órgãos da planta.

A quantidade de conídios retirados de folhas verdes em diferentes épocas do ciclo da cultura foi significativamente diferente ($P \leq 0,05$) entre os tratamentos, sendo o mês de novembro de 2010 o que apresentou maior quantidade de conídios (Tabela 3).

Tabela 3. Número médio de conídios de *A. caricae* em folhas verdes, coletadas em duas diferentes épocas do ano no mamoeiro Calimosa, cultivado no campo experimental do Curu, em Paraipaba, CE.

Tratamento	Número médio de conídios ⁽¹⁾
Novembro/2010	$15,5 \times 10^{-5} \text{ }^a$
Março/2011	$1,3 \times 10^{-4} \text{ }^b$
CV (%) = 28,0	-

⁽¹⁾ Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$.

Médias originais seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste t ($P \leq 0,05$).

Durante o mês de novembro, a doença em campo se encontrava em alto índice de severidade, ao passo que, no mês de março, ocorreu uma redução significativa desta. No ensaio, verificou-se que a quantidade de conídios foi diretamente proporcional ao nível de severidade observada no experimento realizado no campo, ou seja, maior severidade representa maior quantidade de conídios presentes nas lesões.

Suzuki et al. (2007), em seus trabalhos realizados em lavouras de mamoeiro do grupo solo no Município de Linhares, observou a ocorrência de epidemia da doença entre os meses de novembro e

março. Foi constatado que a severidade da doença foi mais alta na região quando da ocorrência de alta umidade relativa e em períodos chuvosos. Constatou-se também que, durante esse período, as lavouras novas de mamão entram em produção, sendo frequente a observação de epidemias durante essa época do ano.

Pelos resultados da quantificação dos conídios em diferentes meses, houve coincidência da quantidade de conídios com a doença no início e final da epidemia da pinta-preta. Talvez, a quantificação dos conídios pode ser utilizada na determinação de epidemias da doença nas áreas produtoras de mamão. Novos estudos devem ser realizados para quantificar a epidemia de *A. caricae* baseada nessa hipótese.

Conclusão

1. O meio de cultura V8 veiculado em óleo mineral proporciona maior germinação de conídios de *A. caricae*.
2. Maior percentagem de germinação ocorre quando os conídios do fungo são extraídos de folhas amarelas e secas.
3. Folhas verdes de mamoeiro têm maior quantidade de conídios de *A. caricae* quando comparadas com folhas amarelas e secas.
4. A época do ano de maior epidemia influencia na maior quantidade produzida de conídios.
5. As folhas verdes, amarelas e secas são potenciais fontes de inóculo desse patógeno para o mamoeiro.

Agradecimentos

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap), pela concessão da bolsa de Iniciação Científica ao primeiro autor. Aos funcionários do Campo Experimental do Curu (Paraipaba, CE), pelo apoio na condução do experimento de campo, do qual derivou este presente trabalho.

Referências

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Burlington: Elsevier Academic, 2005. 922p.

ANGELOTTI, F; TESSMANN, D.J.; SCAPIN, C.R.; VIDA, J.B. Efeito da temperatura e da luz na germinação de uredinósporos de *Phakopsora euvitis*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n.1, p. 59-61, 2011.

BOSSANELLI, D.C; CARVALHO, B.M.; VIVAS, M.; SANTOS, P.H.D.; VIVAS, J.M.S.; SILVEIRA, S.F. Germinação conidial in vitro de *Asperisporium caricae* sob diferentes concentrações de cobre e acybenzolar-s-metil (ASM). **Tropical Planta Patholgy**, Brasília, DF, v. 38, ago. 2012. Suplemento, ref 394. Edição dos resumos do 45 Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Manaus, ago. 2012.

CHAMBERS, K.R; RIJKENBERG, F.H.J. Culture of *Asperisporium caricae*, the papaya black spot organism. **Phytophylactica**, Pretoria, v.19, n.1, p.113, 1987.

CARVALHO, B.M.; VIVAS, J.M.S.; SANTOS, P.H.D.; VIVAS, M.; BOSSANELLI, D.C.; SILVEIRA, S.F. Germinação conidial e penetração de *Asperisporium caricae* em folhas de genótipos de mamoeiro resistente e suscetível à pinta preta. **Tropical Planta patholgy**, Brasília, DF, v. 38, ago. 2012. Suplemento ref. 383. Edição dos resumos do 45 Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Manaus, ago. 2012,

FERREIRA, D.F. **SISVAR software: versão 5.3**. Lavras: DEX/UFLA, 2010. Software.

FURTADO, G.Q.; ALVES, S.A.M.; CZERMAINSKI, A.B.C.; MASSOLA JR, N.S. Preservation of *Phakopsora pachyrhizi* uredospores. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 156, n.1, p.62-64, 2008.

IBGE. **Produção de lavouras permanentes no Brasil**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=ce&tema=lavourapermanente2009>>. Acesso em: 11 maio 2011.

SILVA, L.G. da. **Isolamento e crescimento de *Asperisporium caricae* e sua relação filogenética com *Mycosphaerellaceae***. 2010. 58 f. Tese (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG.

LIMA, J.S.; ARAGÃO, K.A.; LIMA, F.A.; MARTINS, M.V.V.; OLIVEIRA, F.S.A. Avaliação da germinação de conídios do fungo *Asperisporium caricae* em meios de cultura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 21, 2010, Natal. **Anais...** Campinas, SBF, 2010.

MARTINS, D.S.; COSTA, A de F.S. (Ed.) **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES: Incaper, 2003, p.231-244.

NAKASONE, H.Y. Part V: papaya. In: PLOETZ, R.C., ZENTMYER, G.A., NISHIJIMA, W.T., ROHRBACH, K.G., OHR, H.D. (Ed.) **Compendium of tropical fruit diseases**. St. Paul. APS Press. p.56-57, 1994.

REZENDE, J.A.M.; MARTINS, M.C. Doenças do mamoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p. 435-496.

ROSSI, D.A.; COSTA, A.F; ROSSI, D.F.; ENTRINGER, C.; DAHER, R.F.D.; SILVEIRA, S.F. Germinação in vitro de conídios de *Asperisporium caricae* (Speg) Maubl. Agente casual da pinta- preta do mamoeiro (*Carica papaya* L.). In: In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTUCULTURA, 20.; ANNUAL MEETING OF THE INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE, 54., 2008, Vitória. **Resumos expandidos...** Vitória, ES: INCAPER; Campinas: SBF, 2008

SIMÃO, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998, 760p.

SUZUKI, M.S.; ZAMBOLIM, L.; LIBERATO, J.R. Progresso de doenças fúngicas e correlações com variáveis climáticas em mamoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 23, n.2, p.167-177, 2007.



Agroindústria Tropical

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

